

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER N° 13
FACULTÉ DE MÉDECINE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES POUVOIRS RÉDUCTEURS DU LAIT
EN PARTICULIER

DU

POUVOIR RÉDUCTEUR ALDÉHYDIQUE

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 22 Décembre 1914

PAR

Sylva HUGONNET

Né à Rieutort-de-Randon (Lozère), le 12 mai 1887

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

EX-INTERNE DE L'HÔPITAL E. LOUBET DE PARIS

ANCIEN ELÈVE DE L'INSTITUT PASTEUR DE PARIS

Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine

Examineurs
de la Thèse

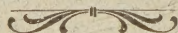
BERTIN-SANS, Professeur, *Président*.

VILLE, Professeur.

GALAVIEILLE, Agrégé.

CABANNES, Agrégé.

Assesseurs



MONTPELLIER
IMPRIMERIE COOPÉRATIVE OUVRIÈRE

14, Avenue de Toulouse. — Téléphone : 8-78

1914

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES POUVOIRS RÉDUCTEURS DU LAIT
EN PARTICULIER
DU
POUVOIR RÉDUCTEUR ALDÉHYDIQUE

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER N° 13
FACULTÉ DE MÉDECINE

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES POUVOIRS RÉDUCTEURS DU LAIT
EN PARTICULIER

DU

POUVOIR RÉDUCTEUR ALDÉHYDIQUE

THÈSE

Présentée et publiquement soutenue à la Faculté de Médecine de Montpellier

Le 22 Décembre 1914

PAR

Sylva HUGONNET

Né à Rieutort-de-Randon (Lozère), le 12 mai 1887

LICENCIÉ ÈS SCIENCES

EX-INTERNE DE L'HÔPITAL E. LOUBET DE PARIS

ANCIEN ELÈVE DE L'INSTITUT PASTEUR DE PARIS

Pour obtenir le Grade de Docteur en Médecine

Examineurs
de la Thèse

BERTIN-SANS, Professeur, *Président*.

VILLE, Professeur.

GALAVIELLE, Agrégé.

CABANNES, Agrégé.

Assesseurs



MONTPELLIER
IMPRIMERIE COOPÉRATIVE OUVRIÈRE
14. Avenue de Toulouse. — Téléphone : 8-78

1914



PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Administration

MM. MAIRET (*)	DOYEN.
SARDA	ASSESEUR.
IZARD	SECRÉTAIRE

Professeurs

Clinique chirurgicale	MM. TEDENAT (*)
Clinique médicale	CARRIEU.
Clinique des maladies mentales et nerveuses	MAIRET (*)
Physique médicale	IMBERT (*)
Botanique et histoire naturelle médicales	GRANEL.
Clinique chirurgicale	FORGUE (*)
Clinique ophtalmologique	TRUC (O. *)
Chimie médicale	VILLE.
Physiologie	HEDON.
Histologie	VIALLETON.
Pathologie interne	DUCAMP.
Anatomie	GILIS (*)
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	ESTOR.
Microbiologie	RODET.
Médecine légale et toxicologie	SARDA.
Clinique des maladies des enfants	BAUMEL (*)
Pathologie et thérapeutique générales	BOSC.
Hygiène	BERTIN-SANS (H.)
Clinique médicale	RAUZIÉR (*)
Clinique obstétricale	VALLOIS.
Thérapeutique et matière médicale	VIRES.
Anatomie pathologique	N.....

Professeurs adjoints : MM. DE ROUVILLE, PUECH, MOURET.

Doyen honoraire : M. VIALLETON.

Professeurs honoraires : MM. E. BERTIN-SANS (*), HAMELIN (*), GRASSET (O. *).

Secrétaire honoraire : M. GOT.

Chargés de Cours complémentaires

Clinique gynécologique	MM. DE ROUVILLE, prof.-adj.
Accouchements	PUECH, profes.-adjoint.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURET, profes.-adj.
Pathologie externe	LAPEYRE, agr. lib. ch. de c.
Clinique des maladies des voies urinaires.	JEANBRAU *, agr. lib. ch. de c.
Clinique ann. des mal. syphil. et cutanées...	VEDEL, agr. lib. ch. d. c.
Médecine opératoire	SOUBEYRAN, agr. lib. ch. d. c.
Clinique annexe des maladies des vieillards.	EUZIERE, agrégé.
Accouchements	P. DELMAS, agrégé.

Agrégés en exercice

MM. GALAVIELLE.	MM. CABANNES.	MM. RIMBAUD.
GRYNFELTT.	DERRIEN.	ROGER.
LAGRIFFOUL.	P. DELMAS.	ETIENNE.
LEENHARDT.	MASSABUAU.	LISBONNE.
GAUSSEL.	EUZIERE.	
RICHE.	J. DELMAS.	

Examineurs de la thèse :

MM. BERTIN-SANS, Président.	MM. GALAVIELLE, Agrégé.
VILLE, Professeur.	CABANNES, Agrégé.

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A LA MÉMOIRE DE MA MÈRE

A MON PÈRE

A MA FIANCÉE

A MES FRÈRES

S. HUGONNET.

A TOUS MES MAÎTRES

DES HÔPITAUX
DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE
DE LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'INSTITUT PASTEUR
DE L'HÔPITAL E. LOUBET.

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR BERTIN-SANS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR VILLE

A MESSIEURS LES PROFESSEURS AGRÉGÉS
GALAVIELLE ET CABANNES

S. HUGONNET.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

A MONSIEUR LE DOCTEUR GOUGEROT

PROFESSEUR AGRÉGÉ A LA FACULTÉ DE PARIS

En souvenir de profonde reconnaissance.

A MESSIEURS LES DOCTEURS

BRUCHET

ET

RÉMY

ANCIEN CHEF DE CLINIQUE A LA FACULTÉ EX-INTERNE DES HÔPITAUX

DE PARIS

MÉDECINS DE L'HÔPITAL E. LOUBET DE PARIS

S. HUGONNET.

Au cours de notre deuxième année de service militaire, comme médecin auxiliaire au 81^e régiment d'infanterie à Montpellier, nous avons eu la bonne fortune d'être admis comme travailleur au Laboratoire d'hygiène de la Faculté de médecine.

M. le professeur Bertin-Sans, qui s'occupe tout spécialement des réductases microbiennes du lait, a bien voulu nous conseiller d'en étudier le pouvoir réducteur aldéhydique.

Afin de donner une description d'ensemble des divers pouvoirs réducteurs du lait, nous faisons précéder notre étude d'un court aperçu des autres pouvoirs réducteurs : pouvoir réducteur du sucre de lait, pouvoir réducteur microbien (dont la matière a été prise dans un article de MM. Bertin-Sans et Gaujoux paru dans la Revue d'hygiène et de police sanitaire, mars 1914).

Nous adressons ici à M. le professeur Bertin-Sans l'hommage de toute notre reconnaissance pour la façon bienveillante dont il nous a accueilli au laboratoire et guidé dans ces travaux.

Nous remercions également M. le docteur Gaujoux,

préparateur au laboratoire d'hygiène, qui a bien voulu nous prodiguer ses conseils éclairés.

Il nous est un devoir bien cher à remplir avant de quitter la Faculté : c'est celui d'adresser notre souvenir ému et l'assurance de toute notre gratitude à tous ceux qui se sont occupés de notre perfectionnement intellectuel, et plus particulièrement à M. le professeur agrégé Gougerot qui fut, à certaines heures, notre guide le plus sûr et notre meilleur conseiller. C'est à lui que nous devons le goût de notre future profession et nos connaissances en clinique médicale.

Contribution à l'étude des Pouvoirs réducteurs du Lait

EN PARTICULIER

DU POUVOIR RÉDUCTEUR ALDÉHYDIQUE

POUVOIR RÉDUCTEUR MICROBIEN DU LAIT

Duclaux, en 1887 (2), a montré le pouvoir que possède le lait de vache de transformer l'indigo en son leucodérivé. Vaudin (3) eut l'idée d'utiliser ce pouvoir pour mesurer le degré d'altération d'un lait commercial.

Plus tard, Winter Blyth (4), Neisser et Wechsberg (5) proposèrent pour cette mesure la teinture de tournesol ou le bleu de méthylène.

En 1902, Schardinger (6) montra que la décoloration du bleu de méthylène non formolé n'avait lieu que lorsque le lait était altéré.

De nombreux expérimentateurs se sont occupés de cette question : il convient de citer les travaux de Raudnitz (7), Smidt (8 et 9), Seligmann (10), Orla Jensen (11 et 12), Barthel (12 et 13), Bertin-Sans et Gaujoux (1).

Pour doser le pouvoir réducteur ou mesurer le temps

nécessaire à produire la réduction à une température déterminée en suivant la technique de Cathcart et Hahn (16) et de Muller (17), d'une certaine quantité de bleu de méthylène en sol. hydroalcoolique, on ne se sert aujourd'hui que de bleu de méthylène. Ce dernier ne se combine pas à la caséine [Orla Jensen (14)], il est facilement absorbé par les organismes vivants, moins altérable et plus sensible que le carmin indigo et la teinture de tournesol [Bertin-Sans et Gaujoux (15)].

Bertin-Sans et Gaujoux (18) ont perfectionné la méthode en adjoignant à ce bleu un colorant fixe convenablement choisi, et en substituant « à l'observation peu délicate d'une décoloration, celle, plus facile, d'un virage ».

On utilise le bleu de méthylène du commerce qui se présente sous forme de deux sels, soit le chlorhydrate de tétraméthylthyonine, soit le chlorure double de tétraméthylthyonine et de zinc. MM. Bertin-Sans et Gaujoux ont constaté que ces deux sels donnent les mêmes résultats (44).

Comme les solutions hydroalcooliques de bleu de méthylène sont altérables, on emploie, au Danemark, des tablettes de bleu qu'on fait dissoudre extemporanément.

La vitesse de réduction du bleu est optima entre 45 et 50°. On adopte, en général, pour l'épreuve de la réductase, une température comprise entre 38 et 40° « qui ne gêne pas, comme la précédente, la formation de nouvelles réductases et fournit ainsi, grâce à leur accroissement quantitatif, malgré la diminution de leur activité réductrice, des résultats plus rapides. »

L'oxygène constitue une gêne pour cette réaction.

On peut empêcher son action en mettant au-dessus du lait une couche de paraffine liquide, ou au moyen de tubes construits d'une façon spéciale [Lobeck-Gerber (19), Barthel (20)].

Cette précaution paraît inutile, si on se sert d'un tube à essai dans lequel la quantité de lait est suffisante (10 à 20 cc. environ). Il reste à la surface du lait un anneau bleu qui ne fausse en rien les résultats.

Technique du procédé

(Bertin-Sans et Gaujoux (18 et 44)

« On prépare deux solutions à 1/4000, l'une de bleu de méthylène en dissolvant 0,25 de bleu dans un litre d'eau distillée, l'autre de fuchsine rubine en dissolvant 0,25 de fuchsine dans 50 cc. d'alcool et en étendant ensuite à un litre avec de l'eau distillée. Ces deux solutions soigneusement préparées et maintenues dans des flacons bien bouchés peuvent se conserver pendant un temps très long sans altération appréciable.

» On verse dans un tube à essai 20 cc. du lait à examiner et on y ajoute III gouttes de la solution de fuchsine, puis V gouttes de la solution de bleu de méthylène, ces gouttes étant fournies par des compte-gouttes qui donnaient XX à XXV gouttes au cc.

» On mélange intimement, mais avec quelques précautions, de façon à ne pas introduire une quantité exagérée d'air dans le lait et à ne pas produire une mousse abondante. Le lait prend une coloration gris cendré.

On bouche le tube avec un petit tampon de coton,

on le porte dans un bain maintenu à une température de 38° à 40° et on observe le moment où le tube vire du gris cendré au lilas pour devenir bientôt franchement rose par suite de la décoloration du bleu de méthylène.

» Le temps écoulé entre le début de l'expérience et le moment du virage représente le temps de réduction et renseigne sur la teneur en réductases du lait examiné.

» La teneur ainsi évaluée correspond, bien entendu, à celle du lait au moment où s'effectue la réduction et ne saurait exprimer la proportion de réductases que renfermait le lait au début de la mise en expérience. »

Le lait frais de vaches saines ou malades ne contient pas des quantités appréciables de réductases, cependant Bertin-Sans et Gaujoux semblent en avoir constaté en nombre assez considérable dans le lait frais de vaches atteintes de fièvre aphteuse (33). Leur existence semble être en rapport avec la présence de pus, et, par suite, être attribuée aux enzymes microbiennes.

Les études de Barthel, de Jensen ont démontré que cette enzyme est due aux microbes. Barthel et Jensen (11, 12, 13, 14 et 20) ont parallèlement mesuré le pouvoir réducteur et fait la numération des microbes sur plaques. Ils ont trouvé dans la plupart des cas une concordance remarquable (voir le tableau de la page 31). Le parallélisme n'est pas toujours rigoureux [Barthel (13 et 20), Jensen (12 et 14), Guerrera (39)], mais cela tient sans doute à ce que la numération sur plaques n'est pas exempte de critique [Robert et S. Breed (38)], ou encore à ce que les germes ne sont pas tous doués de la même activité réductrice.

Jensen (11), Barthel (13) et Fred (31) ont montré que le pouvoir réducteur est variable suivant les espèces

microbiennes envisagées. Très faible pour les ferments lactiques, du groupe du *bacterium lactis acidi*, notablement marqué pour les bacilles *coli* et *aérogène*, pour le *proteus vulgaris*, le *subtilis*, très élevé pour certains microcoques (*m. casei amari*, *m. caudicans*).

On n'est pas encore fixé sur la question de savoir si le ferment est endo ou ecto-cellulaire.

En raison de la simplicité de sa technique, de sa sensibilité, de la rapidité et de la nature des indications qu'elle peut donner, l'épreuve de la réductase doit être considérée comme bien supérieure à tous les procédés jusqu'ici proposés pour apprécier le degré d'altération du lait.

De cette réaction on peut tirer, avec Bertin-Sans et Gaujoux (44), les conclusions suivantes :

1° Un lait proprement recueilli et frais ne doit pas donner la réaction en moins de sept heures ;

2° Un lait qui donne la réaction en moins d'une heure et demie doit être considéré comme suspect ;

3° En moins de trois quarts d'heure, il ne doit pas être utilisé pour l'alimentation des nourrissons et des malades ;

4° En moins d'un quart d'heure, il ne doit pas être consommé ;

5° Pour un lait pasteurisé on doit exiger que le virage ne se produise pas en moins de sept heures.

POUVOIR RÉDUCTEUR DU SUCRE DE LAIT

Il est facile de montrer [Smidt (8)] qu'à une concentration égale à celle qu'il a dans le lait (4,6 ‰), le lactose peut réduire le bleu de méthylène, en chauffant, entre 40° et 50°, au bain-marie, 20 cc. de la solution et en y ajoutant quelques gouttes de la solution de bleu :

Bleu de méthylène en solut. alcoolique à 90° sat.	5 cc.
Eau	195 cc.

La seule condition est une réaction franchement alcaline.

La même réaction peut se produire avec du lait cru et du lait bouilli.

Ceci permet de distinguer ce pouvoir réducteur, de celui propre au lait frais, pouvoir qui est détruit par un chauffage à 80°.

POUVOIR RÉDUCTEUR PROPRE DU LAIT FRAIS

En 1902, Schardinger (6) a découvert dans le lait frais un pouvoir réducteur qui se manifeste en décolorant le bleu de méthylène en présence du formol.

Réaction de Schardinger

On met 20 cc. de lait frais et cru dans un tube à essai, on ajoute 1 centimètre cube du réactif de Schardinger :

<i>Sol. alcoolique à 90° sat. de bleu de méthylène..</i>	<i>5 cc.</i>
<i>Eau.....</i>	<i>190 cc.</i>
<i>Formol.....</i>	<i>5 cc.</i>

On mêle le réactif au lait en tournant avec précaution le tube, pour éviter l'action de l'oxygène de l'air ; on peut, de plus, mettre au-dessus du lait une couche de paraffine liquide ou d'huile de vaseline ; mais cette mesure nous paraît inutile. On porte le tube au bain-marie entre 50 et 55° et la décoloration s'obtient entre 5 et 10 minutes.

La décoloration s'opère de bas en haut et, si on n'a pas recouvert le lait de paraffine liquide ou d'huile de vaseline, il reste à la surface un petit anneau bleu dû à l'action de l'oxygène de l'air.

Action de la température sur la réaction

La réaction s'obtient beaucoup plus rapidement si, comme nous le faisons, on chauffe le lait à la température du bain avant de mettre le réactif. La réaction se fait ainsi entre 3 et 5 minutes.

La réaction peut s'effectuer à la température ordinaire, mais il faut un temps plus long, 20 minutes environ.

Température optima : Schardinger (6) dit qu'elle est comprise entre 50° et 55°.

D'après nous, elle semble avoir lieu entre des limites plus étendues, 50° et 75°.

Voici, à ce sujet, le résultat d'une de nos expériences sur un lait de mélange :

<i>A 18° la réaction a été obtenue en 22'</i>			
<i>A 30°</i>	—	—	<i>12'</i>
<i>A 40°</i>	—	—	<i>8'</i>
<i>A 50°</i>	—	—	<i>4'</i>
<i>A 60°</i>	—	—	<i>4'</i>
<i>A 75°</i>	—	—	<i>4'</i>
<i>A 80° il n'y a pas eu de réaction.</i>			

Ce pouvoir réducteur est détruit par un chauffage à 80°. Lagane (46) prétend qu'il n'est qu'atténué et que la réaction peut se faire en 20 minutes. Schar-

dinger (6), Orla Jensen (11), Smidt (9) et nous-même, avons constaté qu'il disparaît à cette température.

La réaction, une fois obtenue, si on élève la température jusqu'à l'ébullition, le lait se recolore en bleu à cause de l'oxygène dissous dans le lait. Ce gaz se dégage et oxyde le produit de réduction.

Action des antiseptiques

La réaction se trouve empêchée :

1° Par une quantité un peu élevée de formol. Nous l'empêchons par addition au centimètre cube de réactif employé de quatre gouttes de la solution commerciale ;

2° Par une forte proportion d'antiseptique (chloroforme, éther, etc.) ;

3° Par l'acide cyanhydrique ;

4° Par l'eau oxygénée.

Sensibilité de la réaction

Par rapport au formol. — Nous avons déterminé sa sensibilité par rapport au formol.

Le réactif contient environ une demi-goutte de formol pour un centimètre cube.

Nous venons de voir que pour des quantités dix fois plus fortes, soit V gouttes, la réaction ne se produit pas.

Pour des quantités inférieures à celle contenue dans le réactif, nous opérons avec les solutions suivantes :

1° Solution de bleu :

<i>Sol. alcoolique de bleu de méthylène saturé à 90°</i>	<i>5 cc.</i>
<i>Eau.....</i>	<i>195 cc.</i>

2° Solution de formol :

- a) *Solution commerciale*
- b) — 1/10 *commerciale*
- c) — 1/100 —
- d) — 1/1000 —

Dans 20 cc. de lait à la température de 55°, nous mettons :

1 goutte de la solution de formol et 1 cc. de bleu.

Voici les résultats d'une de nos expériences :

- a) *Donne la réaction en 3'*
- b) — — 4'
- c) — — 10'
- d) *Ne donne pas de réaction.*

Sensibilité par rapport au bleu de méthylène.— Le lait est capable de réduire des quantités de bleu assez considérables : trois fois son poids de réactif ci-dessus indiqué.

Action des autres aldéhydes

On peut, au lieu de formol, employer d'autres aldéhydes, l'acétaldéhyde, par exemple [H. Smidt (8)], et on arrive aux mêmes résultats.

A ce sujet nous avons vérifié les expériences de Monvoisin.

Nous opérons avec les deux réactifs suivants :

1° Réactif de Schardinger ;

2° Un réactif composé de :

<i>Bleu de méthylène en sol. alcoolique saturé à 90°</i>	<i>5 cc.</i>
<i>Eau.....</i>	<i>190 cc.</i>
<i>Aldéhyde éthylique solution saturée.....</i>	<i>5 cc.</i>

Le premier réactif à 55° donne la réaction en 5'

Le deuxième — — — 2'

Durée du pouvoir réducteur

Le lait conservé perd cette propriété au bout de quinze heures. Elle se trouve alors remplacée par le pouvoir réducteur des microbes qui agit en présence de bleu de méthylène sans formol.

Origine du pouvoir réducteur

Théorie enzymatique. — Smidt (8 et 9) a attribué la faculté du lait frais de réduire le bleu de méthylène qui contient de la formaline, à un enzyme spécial qu'il appelle la « catalase aldéhydique ». Le mot de « réductase » donné par Orla Jensen conviendrait mieux.

Voici les raisons pour lesquelles Smidt pense qu'on a affaire à un ferment :

1° *Il est détruit par la chaleur ;*

2° *Il agit mieux à une température optima ;*

3° *Il est empêché par une forte proportion d'antisep-tique ;*

4° *Il est empêché par l'action de l'acide cyanhydrique.*

Nous verrons plus loin quelles réserves il faut faire à ce sujet.

Brandt affirme qu'il y a deux éléments qui interviennent dans la réaction :

1° Un ferment ;

2° Les microbes.

Il dit qu'une première réduction est optima entre 45 et 50°, l'autre à 70°.

La première serait le résultat des microbes ; la deuxième d'un ferment vrai.

Nous n'avons rien constaté d'analogue entre 50 et 75° ; la vitesse de réaction est la même à n'importe quelle température.

Théorie microbienne. — Seligmann (10, 27, 28) s'est efforcé de vérifier les affirmations de Brandt, et il conclut que l'action réductrice doit être attribuée à l'action vitale ou aux produits de sécrétion des microbes.

Ceci ne nous paraît pas tout à fait exact. En effet, si la formaline renforce cette action, les microbes devraient décolorer les solutions de bleu de méthylène contenant du formol, plus rapidement que celles qui n'en contiennent pas.

Or, dans les deux cas, le temps de réduction est à peu près semblable. Il est même plus considérable quand on emploie le réactif de Schardinger, parce que la formaline exerce une action retardante sur l'activité vitale des bactéries.

Les propres recherches de Seligmann (10, 27, 28) indiquent très bien la différence qui existe entre la réduction microbienne et la réaction de Schardinger.

Des échantillons de lait frais réduisaient assez vite une

solution de bleu de méthylène contenant de la formaline, mais ne modifiaient pas la solution sans formaline.

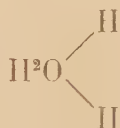
Au bout de trois jours il fallait un peu plus de temps pour réduire la première solution, tandis que la deuxième était réduite presque instantanément.

On sait, d'autre part, que le lait du début de la traite, le plus riche en microbes, a un pouvoir réducteur nul ou très faible.

Théorie de Bach (41) sur l'action du pouvoir réducteur. — Bach admet que ce pouvoir réducteur est dû à un ferment, et il a imaginé la théorie suivante pour en expliquer l'action.

Selon lui, ce ferment joue le rôle de catalyseur dans l'oxydation de l'aldéhyde par l'eau, alors que l'hydrogène qui se forme réduit le bleu de méthylène. La réaction comporte la participation de deux éléments: le ferment et l'aldéhyde. L'enzyme du lait agit comme la peroxydase et l'aldéhyde joue le rôle de l'eau oxygénée.

D'après l'auteur, la dissociation de l'eau donnerait lieu à la formation de perhydrure d'oxygène :



combinaison labile intermédiaire dans les réductions provoquées par le ferment, auquel Bach a cru pouvoir donner le nom de perhydridase.

Remarque : Rømer et Sames (40) prétendent qu'il est possible d'arriver à des phénomènes de même nature

que la réaction de Schardinger, par des procédés artificiels.

On sait que cette réaction ne se produit pas avec du lait cuit ; mais, si l'on en croit Rømer et Sames, on peut la reproduire en ajoutant à 10 cc. de lait bouilli 0 cc. 2 ou 0 cc. 3 de la solution ferrosulfatée à 1 p. 100. Le ferrosulfate seul ne décolore pas le bleu, il n'a d'action qu'en présence du lait ou du sérum de bœuf.

De plus, Rømer et Sames ont montré, qu'en présence des rayons ultra-violet, la réaction de l'oxydase est détruite, et la réaction de Schardinger ne l'est pas.

D'après les expériences de dialyse, faites avec du lait complet et du petit-lait, le dialysat n'avait pas perdu le pouvoir oxydase au bout de quatre jours, la réaction de Schardinger avait disparu au bout de deux.

Si ce pouvoir réducteur est dû à un ferment, ce dernier diffère beaucoup des autres par certaines de ses propriétés. En tous cas, il est prudent de ne pas être trop affirmatif, et on ne peut pas dire d'une façon absolue que la réaction de Schardinger est due à un ferment.

Substratum du pouvoir réducteur

Quel est donc le substratum de ce pouvoir réducteur ?

Pour Smidt (8 et 9) et Barthel (20 et 22) il fait partie de la substance même du globule gras, de la membrane de Stach probablement (Ch. Barthel).

Nous montrerons ultérieurement que cette substance peut être en partie dissoute dans le lait.

Expérience de Smidt (8). — Si par centrifugation on sépare soigneusement la crème du lait, on remarque qu'elle donne la réaction plus énergiquement que le lait complet. On ne retrouve pas la réaction dans le petit-lait.

Expérience de Ch. Barthel (20). — Barthel a contrôlé, au moyen d'un alfa A, I, les expériences de Smidt, et il a constaté, en outre, que le pouvoir réducteur des boues de centrifuge n'est pas appréciable.

Ce pouvoir n'est donc pas fixé sur les bactéries ou leucocytes qui se trouvent dans ces boues.

Pour H. Smidt (8 et 9) et Ch. Barthel (13) le pouvoir réducteur est fixé sur les globules gras du lait.

MM. Bertin-Sans et Gaujoux nous ont autorisé à publier dans ce travail les résultats inédits d'une de leurs expériences entreprises à ce sujet.

avec 5 cc.	Réaction de Schardinger	en	24 h. après
<i>Lait naturel</i>	+	5'	+
— <i>bouilli</i>	0		0
— <i>bouilli + qq. gouttes de culot centrifugé.</i>	0		0
— <i>bouilli + $\frac{1}{2}$ cc. crème</i>	+	5'	+
— <i>bouilli + $\frac{1}{2}$ cc. lait écrémé.</i>	0		+
— <i>bouilli + $\frac{1}{2}$ cc. lait naturel</i>	0		+

Nota. — Les deux derniers résultats positifs obtenus en 24 heures semblent dus aux microbes.

Cependant, avec Monvoisin (35), nous avons vu que la fixation du pouvoir réducteur n'était pas complète, et qu'une certaine quantité de ce pouvoir réducteur se trouvait, à l'état libre, dans le lait.

Si on traite du lait cru et frais par du sulfate de magnésie à saturation, et si on sépare après filtration les globulines et les globules gras, on s'aperçoit que le filtrat décolore en 7' un réactif contenant, au lieu de formoline, de l'aldéhyde éthylique.

Nous avons cherché le pouvoir réducteur dans le petit-lait provenant de la centrifugation: avec le même réactif nous obtenons la réduction alors que le réactif de Schardinger ne la donne pas.

Les petites quantités du pouvoir réducteur paraissent mieux agir en présence d'aldéhyde éthylique que d'aldéhyde formique.

Variations de la réaction de Schardinger pour le lait de vache et son parallélisme avec la teneur en beurre

Römer (40), Brandt, etc., ont montré que la réaction de Schardinger n'est pas rigoureusement constante.

Römer l'a vue manquer 7 fois sur 18 laits examinés.

Harden, Janet et Lane Clayfort (42) ne l'auraient jamais trouvée dans un lait de vache recueilli aseptiquement. Ces assertions sont passibles des mêmes critiques que celles, indiquées plus haut, à propos de la théorie de Seligmann.

Schem pense que, lorsque la réaction n'existe pas, il s'agit de vaches allaitant tout nouvellement; chez les

vaches vieilles laitières, au contraire, elle ne manque qu'une fois sur cinquante environ.

Rømer et Sames (40) ont même vu une vache dont le lait présentait un jour la réaction positivement, le lendemain négativement. Ils attribuent ce phénomène à la stagnation du lait dans le pis. Le lait du début de la traite ne provoque pas la réaction, ou, s'il la provoque, elle est incomplète. Le lait du milieu de la traite la donne d'une manière moins rapide que celui de la fin. Le lait total la provoque.

Voici les résultats obtenus par Rømer et Sames (40) sur la vache n° 129 :

	Lait du début de la traite	Lait pendant la traite	Lait de la fin de la traite
<i>R. Schardinger</i> ...	—	+ en 15'	+ en 5' 30"
<i>R. oxydases</i>	+	+	+
<i>Contenu en beurre.</i>	0,7 ‰	2,2 ‰	8,8 ‰

Ces résultats les ont conduits à se demander si la réaction de Schardinger n'était pas liée à la teneur en beurre du lait.

Il y a un parallélisme très net entre la teneur en beurre et la vitesse de réaction. Mais il n'est pas absolu; par exemple: un lait très riche en beurre ne donne qu'une réaction douteuse; mais des traces de beurre ne

suffisent pas à produire une réaction, même douteuse, comme le prouve l'essai suivant dû aux mêmes auteurs :

	Beurre	R. de Schardinger
<i>Lait du début de la traite . .</i>	1,25 % ₀	—
<i>Lait de la fin de la traite . . .</i>	5,7	+ au bout de 3' 30"
<i>Crème</i>	1,4	Décolore en 2' 30"
<i>Lait maigre</i>	0,1	Au bout de 30' légère décoloration puis retour au bleu foncé

Nous empruntons à M. Jensen (14) le tableau suivant. Nous y verrons que la vitesse de réaction est liée à la teneur en beurre et que, de plus, cette réaction n'est pas due aux microbes, comme le dit Seligmann (10, 27 et 28) :

Nom des vaches	Fractions du lait	Pourcentage de la graisse dans le lait	Nombre de cc. d'oxygène développés en 12 heures	Nombre de colonies sur plaque de gélatine peptonée après 6 jours à 20° par cc. de lait	Temps de réduction en minutes pour la réaction de Schardinger
<i>Kreuz.....</i>	<i>Première .</i>	<i>0.55</i>	<i>traces</i>	<i>16.000</i>	<i>décoloration apparente au bout de 3 heures.</i>
	<i>Moyenne .</i>	<i>2.70</i>	<i>0.5</i>	<i>480</i>	<i>120'</i>
	<i>Dernière..</i>	<i>8.30</i>	<i>2.0</i>	<i>360</i>	<i>15'</i>
<i>Merse.....</i>	<i>Première .</i>	<i>1.50</i>	<i>0.5</i>	<i>3.200</i>	<i>90'</i>
	<i>Moyenne .</i>	<i>3.40</i>	<i>1.0</i>	<i>2.800</i>	<i>75'</i>
	<i>Dernière..</i>	<i>7.80</i>	<i>1.5</i>	<i>360</i>	<i>14'</i>
<i>Spiegel.....</i>	<i>Première .</i>	<i>1.70</i>			<i>105'</i>
	<i>Moyenne..</i>	<i>3.35</i>			<i>80'</i>
	<i>Dernière..</i>	<i>6.40</i>			<i>16'</i>

Pour Reinhardt et Siebold (45) le pouvoir réducteur du lait existe après le vélage, disparaît au bout de 4 ou 5 jours, pour reparaitre dès la 3^{me} ou 4^{me} semaine.

La réaction de Schardinger est absente dans le lait colostré. Cependant Sassenhagen fait remarquer qu'on peut la déceler dans sa crème.

La réaction de Schardinger dans la série animale

Elle a été surtout étudiée dans le lait de vache.

Quelques expérimentateurs (Orla Jensen, Smidt, Lagane) se sont occupés de la rechercher chez la plupart des animaux domestiques.

Dans le lait de femme, la réaction n'est pas constante; pourtant, dans trois laits examinés avec MM. Bertin-Sans et Gaujoux, nous l'avons trouvée positive.

Dans le lait de chèvre, la réaction est toujours négative. Cependant les recherches H. Smidt (9) et les nôtres semblent bien démontrer l'existence de ce pouvoir réducteur. Il doit être masqué par l'oxydase du lait; ainsi, séparant la crème du lait par centrifugation et la recueillant avec soin, nous constatons qu'elle donne une faible réaction de Schardinger.

La réaction est beaucoup plus sensible si on se sert, au lieu du réactif au formol, du réactif à l'aldéhyde éthylique.

Lagane (46) a examiné le lait de deux truies et de deux juments, et a trouvé la réaction négative,

Valeur pratique de la réaction de Schardinger

1° *Pour différencier le lait cru du lait cuit.* — La réaction de Schardinger a été proposée comme moyen « commode » pour reconnaître si un lait frais était cru ou cuit. Pour ce cas particulier il est impossible, devant l'inconstance de cette réaction, de l'utiliser avec une certitude absolue quoiqu'on la trouve toujours positive dans un lait de mélange.

Elle peut, par conséquent, rendre des services dans la pratique.

2° *Pour reconnaître si un lait cru est additionné d'eau oxygénée.* — Adam (47), pensant que les diastases réductrices pouvaient être attaquées par les agents oxydants, a vérifié ce fait et indiqué une façon de reconnaître si un lait, bien que ne renfermant plus d'eau oxygénée décelable en nature, en a contenu.

Par la teinture de gaïac, il recherche d'abord si le lait est bouilli ou non ; ensuite il utilise la réaction de Schardinger à la température 40°-42°.

Le lait brut décolore le réactif ; le lait traité par l'eau oxygénée ne le décolore pas.

Monvoisin (35) a voulu voir si les laits conservés par l'eau oxygénée, ou par l'eau oxygénée ozonisée, avaient leurs réductases altérées et s'ils se comportaient à l'égard de la réaction de Schardinger de la même manière. Il a employé la réaction de Schardinger avec une solution de bleu dans de l'alcool à 80°. Il appelle le réactif de Schardinger :

Avec formol..... Schardinger A
Avec aldéhyde éthylique récemment préparé. — B
Avec aldéhyde éthylique vieux de trois mois.. — C

II ou III gouttes suffisent pour colorer en bleu 10 cc. de lait.

On traite des laits de vaches saines avec 2 p. 100 d'eau oxygénée à 8 volumes sans excès d'acide libre.

Du lait brut de vache saine décolore :

Schardinger A en 18 à 25 minutes
— B en 3 à 4 —
— C en 4 à 5 — donne une
décoloration incomplète teinte lilas persistante.

Lorsque le lait traité par l'eau oxygénée en renferme encore, et donne une réaction à peine sensible avec la solution sulfurique d'acide vanadique, il ne décolore ni A, ni B, ni C, même après une demi-heure au bain-marie.

Quand il ne reste plus d'eau oxygénée :

Schardinger A n'est pas décoloré.
— B est décoloré en 18' à 30'.
— C présente en 15' à 20' une teinte lilas
foncée.

Adam (47), se plaçant dans les conditions habituelles de la réaction, supposait que ce pouvoir réducteur avait été détruit par l'eau oxygénée.

En prolongeant la durée de la réaction (1 heure et demie dans certain cas) et en opérant avec des réactifs diversement préparés, Monvoisin croit avoir prouvé que ce pouvoir réducteur n'est pas détruit, mais sim-

plement affaibli, puisqu'il demande 22 à 25 minutes pour faire ce que, normalement, il ferait en 3 ou 4.

3° *Valeur de la réaction de Schardinger dans le diagnostic des mammites.* — Koning (25) signale l'augmentation du pouvoir réducteur du lait de vaches atteintes de maladies de la mamelle.

Pour Reinhardt et Siebold (45) la réaction de Schardinger n'est d'aucune utilité dans la recherche des mastites.

Au début de l'inflammation, quand le lait est encore normal, la réaction, dans certains cas, est légèrement positive.

Sur le lait mélangé des quatre mamelons, la réaction n'est guère appréciable. Lorsque la sécrétion du pis a pris un aspect tout à fait anormal, la réaction disparaît.

CONCLUSIONS

Le bleu de méthylène peut être réduit en présence du lait par trois facteurs :

I. — Quand le lait est altéré par un pouvoir réducteur dû aux microbes, pouvoir réducteur qui peut servir à déterminer le degré de souillure de ce lait.

II. — Quand le lait est frais, par un pouvoir réducteur dû au sucre du lait, dont la condition indispensable est la réaction alcaline du lait.

III. — Quand le lait est frais et cru, par un pouvoir réducteur qui se manifeste en décolorant le bleu de méthylène, en présence d'un aldéhyde (formol, aldéhyde éthylique, etc.).

a) Ce pouvoir réducteur s'exerce à une température optima comprise entre 50° et 75°;

b) Il est fixé aux globules gras du lait, et se trouve dissous en partie dans le lait;

c) On n'est pas encore fixé d'une façon absolue sur son origine;

- d)* Il semble être lié à la teneur en beurre du lait ;
 - e)* Il n'est pas absolument constant pour le lait de vache, il se manifeste rarement dans le lait de femme et de chèvre ;
 - f)* Il peut être utilisé dans la pratique pour reconnaître si un lait de mélange est bouilli ou non ;
 - g)* Il peut être utilisé pour reconnaître si un lait a été additionné d'eau oxygénée ;
 - h)* Il ne peut être utilisé dans le diagnostic des mastites.
-

BIBLIOGRAPHIE

1. **H. Bertin-Sans** et **Gaujoux**. — Revue d'hygiène et de police sanitaire, t. XXXIV, n° 10, octobre 1912, p. 1020.
2. **Duclaux**. — Le lait. Paris, 1887.
3. **Vaudin**. — Revue d'hygiène et de police sanitaire, 1897, p. 688.— Ibidem, 1907, p. 1065, et Congrès des gouttes de lait à Bruxelles, 1907.
4. **Winter-Blyth**. — The analyst, 26, p. 148.
5. **Neister** et **Wechsberg**. — Münch. med. Wochenschrift, 1900, n° 37.
6. **Schardinger**. — Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs- und Genussmittel, V, 1902.
7. **Raudnitz**. — Ergebnisse der Physiologie, 2 Jahrg., 1903, I Abt.
8. **Smidt**. — Hygienische Rundschau, t. XIV, n° 23, 1^{er} décembre 1904.
9. **Smidt**. — Archiv für Hygiene, 161.
10. **Seligmann**. — Hygiene und Infektionskrankheiten, 1906, p. 161.
11. **Orla Jensen**. — Revue générale du lait, 1906, t. VI, n°s 2, 3 et 4.
12. **Barthel** et **Jensen**. — Revue générale du lait, 1912, t. IX, n°s 10 et 11.
13. **Barthel**. — Revue générale du lait, 1908, t. VII, n°s 1, 2 et 3.

14. **Orla Jensen.** — Revue générale du lait, 1909, t. VII, n° 13, p. 301.
15. **H. Bertin-Sans et Gaujoux.** — Revue d'hygiène et de police sanitaire, t. XXXI, n° 9, sept. 1909, p. 866.
16. **Cathcart et Hahn.** — Archiv für Hygiene, 1902, t. LVI, p. 108.
17. **Muller.** — Archiv für Hygiene, 1902, t. XLIII.
18. **H. Bertin-Sans et Gaujoux.** — Bulletin Société de pédiatrie de Paris, janvier 1911.
19. **Sobeck.** — Milch Zeitung, 39, p. 315, juillet 1910.
20. **Barthel.** — Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs-und Genussmittel, 1911, t. XXI, fasc. 9.
21. **Orla Jensen.** — Revue générale du lait, 1910, t. VIII, n° 3, p. 49.
22. **Barthel.** — Akademicus Handligar och Tidskrift, 1907, n° 6.
23. **Monvoisin.** — Revue générale du lait, 1907, t. VI, n° 12.
24. **Koning.** — Biologische und biochemische Studien über Milch ; übersetzt von Dr J. Kaufmann. Bonn, 1908.
25. **Koning.** — Milchwirtschaftliches Zentralblatt, 1907.
26. **Brandt.** — Münchener med. Wochenschrift, t. LIV, n° 17, 1907.
27. **Seligmann.** — Zeitschrift für angewandte Chemie, t. XIX, n° 36.
28. **Seligmann.** — Zeitschrift für Hygiene, 1907, n° 58, p. 1.
29. **Giffhorn.** — Inaugural Dissertation. Berne, 1909.
30. **W. D. Kooper.** — Zeitschrift für Untersuchung der Nahrungs-und Genussmittel, 1910, t. XX, p. 564-575.
31. **E. B. Fred.** — Centralblatt für Bacteriologie, II, Abt, t. XXXV, 17-19, 1912.
32. **H. Bertin-Sans et Gaujoux.** — Hygiène de la viande et du lait, février 1912.
33. **H. Bertin-Sans et E. Gaujoux.** — Revue générale du lait, t. IX, n° 7, 1912.
34. **Sachs.** — Inaug. Dissert. Stuttgart Freudenstadt, 1912.
35. **Monvoisin.** — Revue générale du lait, 1909, t. VIII, n° 2, p. 25.
36. **M. Sassenhagen.** — Inaugural Dissertation. Stuttgart, 1910.
37. **O. Gratz et A. Naray.** — Milchwirtschaftliches Zentralblatt, 8, 10, 1912.

38. **Robert et S. Breed.** — Centralblatt für Bakteriologie, II, Abt, t. XXX, 1911, p. 337.
39. **Salvatore Guerrera.** — Il Moderno Zovaisco, 1912, série 5, t. I, p. 303.
40. **Rømer et F. Sames.** — Zeitschrift für Untersuchung für Nahrungs und Genussmittel, vol. XI, fasc. 1, 1910.
41. **Bach.** — Biochemische Zeitschrift, XXXI, 5-6, 1911.
42. **Arthür Harden et Janet E. Lane Clayfort.** — Jornal of hygiene, p. 144, juin 1912.
43. **Sassenhagen.** — Thèse de Stuttgart, 1910.
44. **Bertin-Sans et Gaujoux.** — Revue d'hygiène et de police sanitaire, mars 1914.
45. **R. Reinhardt et E. Siebold.** — Bioch. Zeitschrift, t. XXXI, p. 291, 8 mars 1911.
46. **Lagane.** — Revue d'hygiène et de police sanitaire, 20 février 1914.
47. **Adam.** — Recueil de méd. vét., 15 mars 1906.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Montpellier, le 18 décembre 1914.

Le Recteur,

Ant. BENOIST.

VU ET APPROUVÉ :

Montpellier, le 18 décembre 1914.

Le Doyen,

MAIRET.

TABLE DES MATIÈRES

	Pages
PRÉFACE.....	xi
Pouvoir réducteur microbien du lait.....	13
Pouvoir réducteur du sucre de lait.....	18
Pouvoir réducteur propre du lait frais.....	19
Réaction de Schardinger.....	19
Action de la température sur la réaction.....	20
Action des antiseptiques.....	21
Sensibilité de la réaction.....	21
Action des autres aldéhydes.....	22
Durée du pouvoir réducteur.....	23
Origine du pouvoir réducteur.....	23
Substratum du pouvoir réducteur.....	26
Variations de la réaction de Schardinger pour le lait de vache et son parallélisme avec la teneur en beurre.....	28
La réaction de Schardinger dans la série animale.....	32
Valeur pratique de la réaction de Schardinger.....	33
CONCLUSIONS.....	37
BIBLIOGRAPHIE.....	39

SERMENT

En présence des Maîtres de cette École, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque!
